

# Ocena skuteczności systemów dekontaminacji Ecoquest w redukcji mian Norowirusa u myszy

Wykonane przez Dr Lela Riley, RADIL LLC, Columbia MO

18 listopada 2008 r.

## Wprowadzenie

Członkami grupy *Norowirusa* są nierozwinięte wirusy o liniowym, dodatnim sensie, jednoniciowym genomie RNA. Norowirusy należą do rodziny *Caliciviridae*, która obejmuje również rodzaje *Sapovirus*, *Lagovirus* i *Vesivirus*. Dawniej znane jako "wirusy typu Norwalk" lub "małe wirusy o strukturze okrągłej", norowirusy wywołują ostre zapalenie żołądka i jelit u ludzi, zwykle trwające od 24 do 48 godzin i zarażają ludzi w każdym wieku.

Niedawno z myszy wyizolowany został pierwszy mysi norowirus. Ten nowo opisany patogen myszy może być hodowany w hodowli komórkowej, dostarczając pierwszego przykładu norowirusa, który można hodować *in vitro*. W badaniach tych oceniono skuteczność platformy dekontaminacyjnej Ecoquest na obecność mysiego norowirusa (MNV), jako przedstawiciela rodziny *Caliciviridae*, stosując system hodowli *in vitro*.

## Projekt eksperymentalny

### *Zapas wirusa i hodowla*

MNV-4 stosowany w tym badaniu był utrzymywany w komórkach RAW267.4, mysiej linii komórkowej makrofagów. Komórki hodowano w zmodyfikowanej pożywce Eagle'a Dulbecco (DMEM) uzupełnionej 10% płodową surowicą bydlęcą. Wirus był rozmnażany, zateżany i oczyszczany. Oczyszczone miano wirusa miareczkowano przez miareczkowanie blaszki miążdżycowej. Wirusowe zapasy przechowywano w zamrażarce w temperaturze -80 °C.

### *Przygotowanie powierzchni*

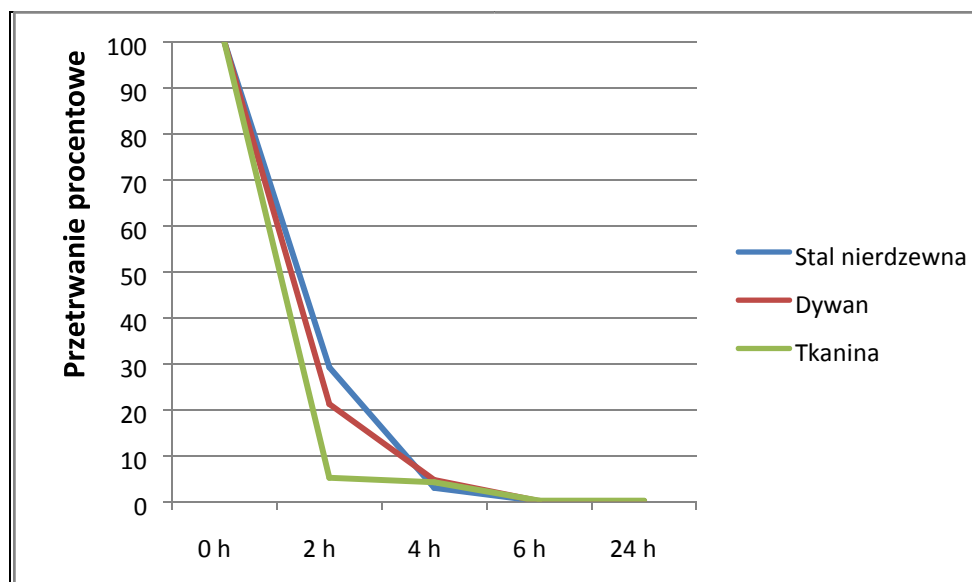
Aby ocenić skuteczność systemów dekontaminacji wolnych od ozonów Ecoquest i niskotemperaturowych do redukcji miana NNV, powierzchnie zanieczyszczone wirusem były narażone na działanie systemu odkażania przez różne odcinki czasu. Dekontaminację oceniano na trzech rodzajach powierzchni: stal nierdzewna, dywan i tkanina. Kasety ze stali nierdzewnej o wymiarach 1,5 cala na 1,25 cala były używane jako powierzchnia ze stali nierdzewnej. Próbkę dywanów i tkanin pocięto na kwadraty o wielkości 1 cala. Przed eksperymentem wszystkie powierzchnie sterylizowano w autoklawie parowym. W celu skażenia powierzchni, 200 µl roztworu podstawowego wirusa MNV (1 x 10<sup>7</sup> PFU / ml) przeniesiono pipetą na środek każdej powierzchni, pokrywając nim ~ 1-2 cm. Powierzchnie pozostawiono do wyschnięcia na powietrzu w szafie bezpieczeństwa biologicznego typu II. Pod koniec godziny próbki kontrolne zerowego punktu czasowego zebrano, a pozostałe zaszczepione powierzchnie umieszczono w nawilżonym inkubatorze w temperaturze 280 °C, w celu poddania obróbce o niskim stopniu utleniania lub bez ozonowania. Wykonano zestaw czterech zaszczepionych próbek dla każdej powierzchni.

Po osiągnięciu określonych czasów ekspozycji powierzchnie zanurzono w 10 ml DMEM zawierającym 10 µg/ml cyprofloksacyny. Powierzchnie ze stali nierdzewnej były skrobane za pomocą sterylnej skrobaczki do komórek w celu usunięcia wirusa z powierzchni kasety. Próbkę dywanów i tkanin umieszczono w sterylnej torbie i homogenizowano przez 1 minutę w Blomdzie Stomacher Lab. Próbkę wyjęto z torby i umieszczono w 15 ml stożkowej probówce wirówkowej i wirowano przy 1000 x g przez 10 minut w celu usunięcia resztek dywanu i fragmentów tkaniny. Jako kontrolę, każdą powierzchnię inokulowano równoważną ilością wirusa i umieszczono w inkubatorze 280 bez traktowania, traktując jako 24-godzinną nieobrabianą próbkę kontrolną. Każdą z próbek poddawanych układowi odkażania badano w czterech powtórzeniach w każdym punkcie czasowym. Próbkę kontrolną zostały również przetestowane w czterech egzemplarzach. Dane są wyrażone jako średnia wszystkich punktów danych.

## Obliczanie miana wirusa i redukcja wirusa



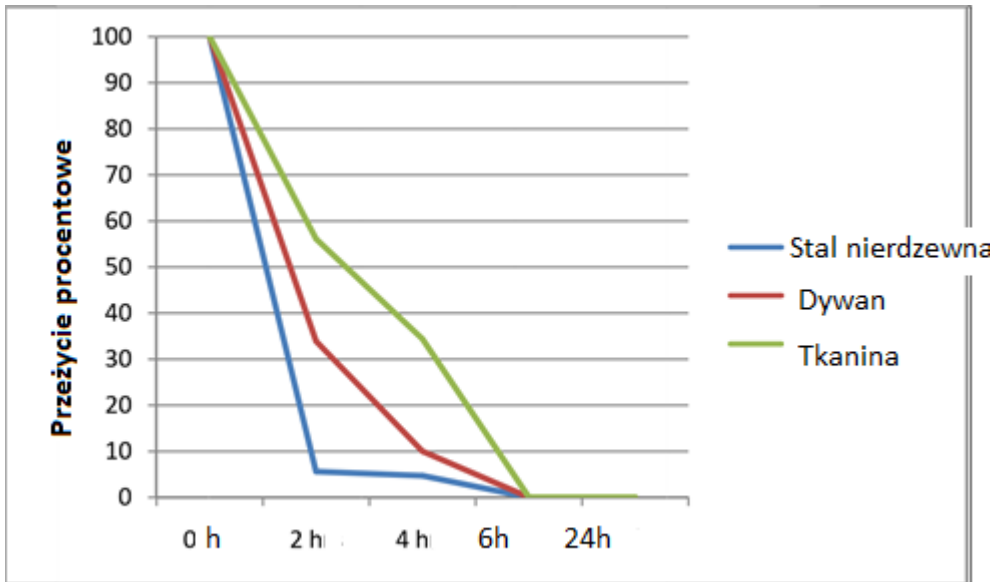
**Figura 1. Przetrawianie MNV po leczeniu bezozonowym**



**Tabela 2. Przeżycie mysiego Norowirusa po leczeniu niskoutlenionym**

Czas obróbki	Stal nierdzewna			Dywan			Tkanina	Stal nierdzewna	
	Bez obróbki (TCID <sub>50</sub> /ml)	Poddana obróbce (TCID <sub>50</sub> /ml)	Procentowy spadek z t=0	Bez obróbki (TCID <sub>50</sub> /ml)	Poddana obróbce (TCID <sub>50</sub> /ml)	Procentowy spadek z t=0	Bez obróbki (TCID <sub>50</sub> /ml)	Poddana obróbce (TCID <sub>50</sub> /ml)	Procentowy spadek z t=0
0 h	1.6 x 10 <sup>5</sup>			2.8 x 10 <sup>5</sup>			2.5 x 10 <sup>4</sup>		
2 h		9.03 X10 <sup>3</sup>	94.4		9.5 x 10 <sup>4</sup>	66.1		1.4 x10 <sup>4</sup>	44.0
4 h		7.6 x10 <sup>3</sup>	95.3		2.8 x 10 <sup>4</sup>	90.0		8.6 x10 <sup>3</sup>	65.6
6 h		<1 x 10 <sup>2</sup>	>99.9		<1 x10 <sup>3</sup>	>99.9		<1 x10 <sup>2</sup>	>99.6
24 h	9.3 x10 <sup>3</sup>	<1 x 10 <sup>2</sup>	>99.9	<1 x10 <sup>3</sup>	<1 x10 <sup>3</sup>	>99.9	<1 x10 <sup>2</sup>	<1 x10 <sup>2</sup>	>99.6

**Figura 2. Przeżycie MNV po leczeniu niskoutlenionym**



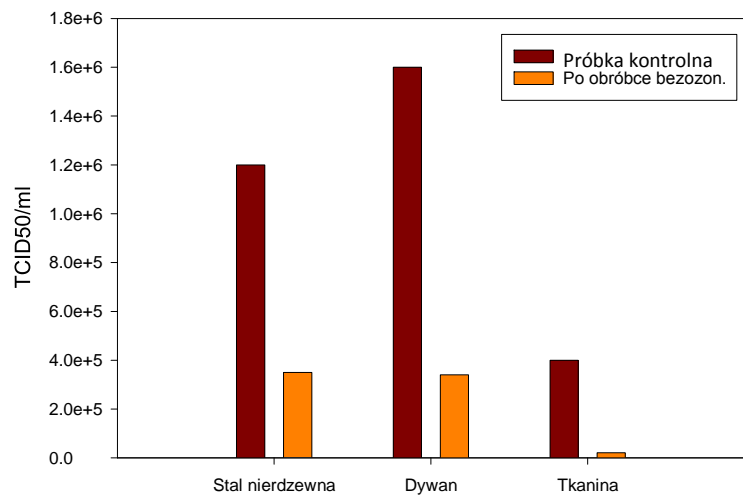
Raport przygotowała:

19 listopada 2018 r. \_\_\_\_\_

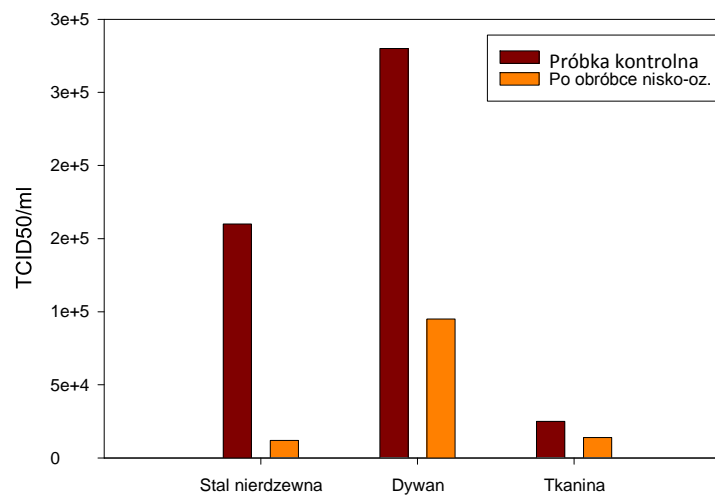
Lela K. Riley, PhD  
Managing Partner, RADIL LLC

Data

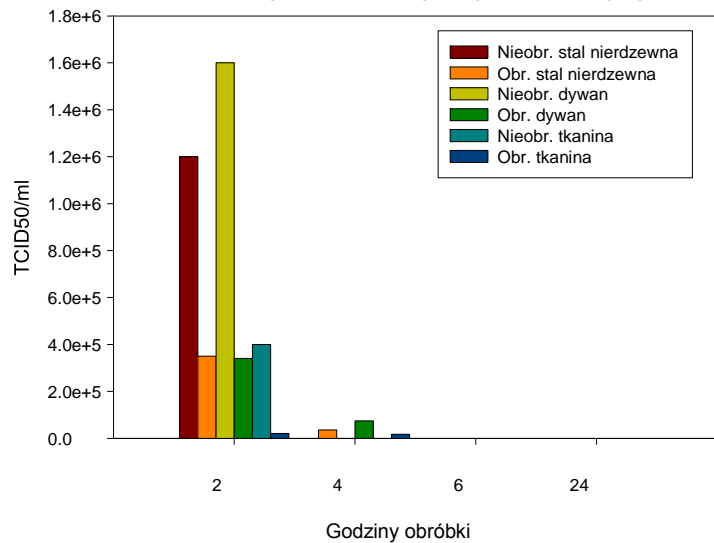
Miana MNV-4 po dwugodzinnej wolnej od ozonu obróbce czystych komórek



Miana MNV-4 po dwugodzinnej nisko-ozonowej obróbce czystych komórek



Miana MNV-4 po wolnej od ozonu aktywnej obróbce czystych komórek



Miana MNV-4 po nisko-ozonowej obróbce czystych komórek

